



بررسی اثرات عصاره هیدرو الکلی گیاه سرخارگل *Echinacea purpurea* در مقابله با ویروس آنفلوانزا و بیان ژن اینترلوکین ۱- $(IL-1\beta)$ در موش‌های BALB/c

سپیده تقی لو^۱، مریم عباسی^{۱*}، بهزاد همتی^۲

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه آزاد واحد کرج، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۱۹

چکیده

سرخارگل نوعی گیاه دارویی از خانواده گیاه کاسنی است و همه قسمت‌های آن به ویژه ریشه‌ها، دارای خواص ضد ویروسی هستند. با توجه به اهمیت گیاه سرخارگل در درمان ویروسی، هدف از مطالعه بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل در مقابله با ویروس آنفلوانزا و بیان ژن اینترلوکین ۱ ($IL-1$) در موش‌های BALB/c می‌باشد. عصاره گیری از گیاه سرخارگل توسط دستگاه سوکسله انجام شد. به منظور جداسازی حلال از عصاره مورد نظر، محلول بدست آمده توسط دستگاه روتاری خالص سازی شد. تعداد ۲۰ سر موش BALB/c ماده با سن ۶-۷ هفته در قالب ۴ گروه ۵ تایی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از یک ماه تیمار گروه‌ها با غلظت‌های مختلف از عصاره‌ها، نمونه‌های بافتی جهت بررسی‌های بیان ژنی جداسازی شد. بیان ژن $IL-1$ در گروه‌های مختلف توسط روش Real-time PCR سنجیده شد. میزان افزایش وزن در گروه‌های تغذیه شده با عصاره هیدروالکلی سرخارگل بطور معنی داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. نتایج آنالیز Real-time PCR نیز نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، میزان بیان ژن $IL-1$ بطور چشمگیری کاهش می‌یابد. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره گیاه سرخارگل می‌تواند در برابر افزایش فعالیت فاکتورهای التهابی بویژه اینترلوکین‌ها در مواجهه با عوامل بیماری‌زای ویروسی مانند آنفلوانزا تأثیر گذار باشد. با این حال انجام مطالعات بسیار زیادی جهت دستیابی به نتایج دقیق ضروری می‌باشد.

کلمات کلیدی: گیاه سرخارگل، آنفلوانزا، اینترلوکین ۱، بیان ژنی، عصاره هیدروالکلی

* mar.abbasi@iauctb.ac.ir

مقدمه

برای مصرف انسانی بی خطر باشند، می‌توانند در افراد مبتلا به بیماری‌های ویروسی، مزایایی را به همراه داشته باشند (۹). مطالعات اولیه نشان داده است که برخی از بخش‌های سرخارگل دارای فعالیت ضدویروسی قابل توجهی هستند. همچنین آزمایش‌های مختلفی نشان داده است که انتقال مداوم ویروس آنفلوانزای نوع A در کشت‌های سلولی در حضور سرخارگل باعث پیدایش ویروس‌های مقاوم نمی‌شود (۱۰).

امروزه درمان آلودگی‌های ویروسی با داروهای شیمیایی در دسترس با پیدایش مقاومت دارویی در ویروس‌ها با چالش‌هایی رو به رو شده است، لذا نیاز به داروهای ضد ویروسی نوین احساس می‌گردد (۱۱). ایمنی و اثر بخشی عصاره سرخارگل برای پیشگیری از سرماخوردگی در یک جمعیت بزرگ بررسی شده است که سرخارگل تعداد کل سرماخوردگی‌ها را کاهش داده و مهار سرماخوردگی را تایید کرده و به خصوص مانع آن شده است (۱۲).

نتایج تحقیقات نشان داده است که عصاره ریشه و برگ سرخارگل سبب تغییر دادن حرکت سلول‌های دندرتیک و ارتباط سلول‌های فیزیولوژی در سیستم ایمنی موش می‌شود (۱۳). نحوه عمل سرخارگل به این صورت است که اجزای فعال سرخارگل ممکن است سبب تقویت یا تحریک سیستم ایمنی در تعامل با سلول‌های مختلف سیستم ایمنی شوند. پاسخ ایمنی می‌تواند ذاتی باشد که توسط ماکروفاژها، سلول‌های کشنده طبیعی و نوتروفیل‌ها انجام گیرد و یا پاسخ اختصاصی باشد که توسط لنفوسیت‌های T تولید کننده اینترلوکین‌ها انجام می‌شود (۱۴). اینترلوکین ۱ (IL-1) یک خانواده مهم از اینترلوکین‌های بدن است که از برخی گلبولهای سفید به‌ویژه ماکروفاژها ترشح می‌شوند و در پاسخ‌های التهابی نقش مهمی دارند. اینترلوکین ۱ از سلول‌های درشت‌خوار، لنفوسیت‌های B، مونوسیت و سلول‌های دندرتیک ترشح می‌شود و بر سلول‌های لنفوسیت، درشت‌خوار و سلول کشنده طبیعی مؤثر است. اصلی‌ترین کارکرد این سایتوکین تمایز و تولید سریع‌تر گویچه‌های سفید، ایجاد التهاب و تولید پروتئین‌های فاز حاد است (۱۵).

در سال‌های اخیر عصاره‌های گیاهی متنوعی به‌عنوان عوامل ضد میکروبی مورد توجه قرار گرفته است (۱). سرخارگل (*Echinacea purpurea*) از جمله گیاهان دارویی مهمی است که کاربرد وسیعی در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی دارد (۲). این گیاه اگرچه بومی ایران نیست، اما در سال‌های اخیر مورد توجه محققان بخش کشاورزی و باغبانی قرار گرفته است و در مزارع آزمایشی و تجاری کشور کاشت می‌شود (۳). این گیاه علفی، چند ساله است و دارای ریزوم کوتاه و ریشه مستقیم و کم و بیش منشعب به رنگ قهوه‌ای تیره تا سفید مات است. در طب گیاهی، سرخارگل به دلیل خاصیت تحریک ایمنی آن شناخته شده است و در حال حاضر نیز به منظور پیشگیری و درمان سرماخوردگی معمولی و درمان سرفه، برونشیت و عفونت‌های ریوی و بیماری‌های مزمن ناشی از نقص پاسخ ایمنی استفاده می‌شود (۴). همچنین این گیاه فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا ظرفیت خنثی سازی رادیکال‌های آزاد را دارا می‌باشد که این ویژگی به اجزای پلی فنلی آن نسبت داده می‌شود (۵). اخیراً سازمان بهداشت جهانی نیز مصرف موضعی آن را علاوه بر موارد فوق، در درمان التهابات پوستی تأیید کرده است و همچنین به عنوان کاندیدای درمان بیماری ایدز مطرح می‌باشد (۶). ترکیب‌های فنلی مختلفی در عصاره سرخارگل شناسایی شده که از جمله آن‌ها اکتیناکوزید، کلرژنیک اسید، سینارین، کافئیک اسید و اسید شیکوریک (مهمترین ترکیب فنلی) می‌باشد (۷).

عوامل بیماری‌زای ویروسی تهدیدی مستمر برای سلامتی انسان هستند؛ با این حال عصاره‌های گیاهی حاوی پلی فنل‌ها می‌توانند نقش مهمی در کنترل شیوع بیماری‌های ویروسی ایفا کنند و علائم بیماری را کاهش دهند (۸). این عصاره‌ها همچنین دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی هستند. به نظر می‌رسد اکثر عصاره‌های گیاهی که

(تیمار ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) شامل موش‌های گاوآژ شده بصورت روزانه و بمدت یک ماه، گروه سوم (تیمار ۱ میلی-گرم بر کیلوگرم) شامل موش‌های گاوآژ شده بصورت روزانه و بمدت یک ماه و گروه چهارم (تیمار ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) شامل موش‌های گاوآژ شده بصورت روزانه و بمدت یک ماه بودند (۷).

پس از یک ماه تیمار گروه‌ها با غلظت‌های مختلف از عصاره هیدروالکلی سرخارگل، کلیه موش‌ها با واکسن آنفلوانزا مورد چالش قرار گرفتند. برای این منظور میزان ۵۰ میکرولیتر به عضله ران موش تزریق شد. پس از ۲۴ ساعت، تمامی موش‌ها توسط کلروفوم بیهوش شده و نمونه‌گیری بافت قلب انجام شد. سپس نمونه‌های بافتی تهیه شده جهت بررسی بیان IL-1 مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی آزمایش‌ها منطبق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شده و در کلیه روش‌ها اصول اخلاقی مورد تأیید دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی رعایت شد (۸).

بررسی بیان ژنی

جهت استخراج RNA کل از بافت جداسازی شده از گروه‌های مختلف، از محلول RNX Plus و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، استفاده شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده به ترتیب توسط الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد و دستگاه نانودراپ مورد بررسی قرار گرفت. سنتز cDNA با استفاده از آنزیم رونوشت بردار معکوس انجام شد. جهت بررسی تغییرات بیان ژن IL-1 از روش Real-Time PCR استفاده شد. این واکنش در حجم کل ۱۰ میکرولیتر شامل: ۵ میکرولیتر مسترمیکس، ۱ میکرولیتر cDNA، ۱ میکرولیتر پرایمرهای رفت و برگشت و ۳ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه انجام شد. بدین منظور توالی پرایمرهای ژن‌های مورد استفاده در این پژوهش طراحی شد. توالی و مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ نشان داده شده است. برنامه دمایی مورد استفاده شامل ۱ چرخه دناتوراسیون اولیه

با توجه به اهمیت و عملکرد گیاه سرخارگل به عنوان درمان‌های جایگزین طبیعی و کاهش دهنده التهاب و تقویت کننده سیستم ایمنی، هدف از این مطالعه بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل در مقابله با ویروس آنفلوانزا و بیان ژن IL-1 در موش‌های BALB/c می‌باشد.

مواد و روش کار

جمع آوری و تهیه عصاره گیاهی

گیاه سرخارگل از مراکز معتبر فروش گیاهان دارویی در استان تهران در اردیبهشت ۱۴۰۱ جمع آوری گردید و در هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی شناسایی و مورد تأیید قرار گرفت. گیاهان پس از جمع آوری به مدت ۲ روز در سایه خشک شده و به منظور استخراج بهتر عصاره، گیاه خشک شده به وسیله آسیاب خرد شد. سپس عصاره گیری با استفاده از روش خیساندن انجام شد. برای این منظور برگ‌های خشک شده گیاه مورد نظر پودر شده و ۵۰ گرم از آن به ظرف حاوی مقدار ۵۰۰ میلی لیتر از حلال اتانول افزوده شد. پس از ۲ تا ۴ روز، جهت صاف کردن محلول از حرارت ۵۰ درجه سلسیوس استفاده شد (۸، ۹).

برنامه تیمار و تهیه نمونه بافتی

در این مطالعه ۲۰ سر موش BALB/c ماده با سن ۵ هفته و وزن ۱۱ تا ۱۵ گرم از موسسه واکسن و سرم سازی رازی خریداری گردید. کلیه موش‌ها در شرایط یکسان و درجه حرارت ۱۸ تا ۲۴ درجه سلسیوس و رطوبت ۴۰ درصد و ۱۲ ساعت سیکل روشنایی و ۱۲ ساعت سیکل تاریکی (سیکل طبیعی) نگهداری شدند و در این مدت با آب و خوراک مناسب تغذیه شدند. پس از این مدت، وزن همه موش‌ها به منظور کنترل قبل و بعد از آزمایش به کمک ترازوی دیجیتالی تعیین گردید. تمامی آن‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. گروه اول (کنترل) شامل موش‌های تغذیه شده تنها با آب و غذای حیوانات، گروه دوم

درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه)، ۴۰ چرخه (۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ ثانیه)، اتصال پرایمر (۵۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه) و سنتز (۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه)) بود. همچنین از ژن ACTB به عنوان ژن رفرنس استفاده شد (۹)

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده جهت بررسی بیان ژن IL-1 در سلول‌های سرطانی تیمار شده.

ژن	توالی
IL-1	Forward: TACCTATGTCTGGCCCGTGGAG Revers: ATCATCCCACGAGTCACACAGG
ACTB	Forward: TCCTCCTGAGCCAAGTA Revers: CCTGCTTGCTGATCCACATCT

آنالیز آماری

آزمایشات انجام شده در این مطالعه بصورت سه بار تکرار انجام شد و نتایج بدست آمده بصورت میانگین \pm انحراف معیار (SD) ارائه گردید. آنالیز آماری نتایج بدست آمده با استفاده از آزمون‌های Tukey, Student's t-test (post hoc) و one way analysis of variance (ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار Graph Pad Prism انجام شد. مقادیر p-value < 0.05 به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد (۱۱).

نتایج

تغییرات میانگین وزنی

تغییرات میانگین وزنی موش‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف گیاه سرخارگل (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل در دوره‌های ۱۴ در جدول ۲ نشان داده شده است. میزان افزایش وزن در گروه‌های مختلف در طول دوره رشد (انتهای روز ۲۸) به طور معنی‌داری در گروه دوم و سوم نسبت به گروه اول و گروه کنترل، بیشتر بود. بر اساس نتایج بدست آمده، افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی سرخارگل ارتباط مستقیمی با افزایش وزن موش‌های تیمار شده نشان داد.

جدول ۲. تاثیر غلظت‌های مختلف از عصاره هیدروالکلی سرخارگل بر میانگین وزنی نمونه‌های مورد آزمایش در مقایسه با گروه کنترل (میانگین \pm انحراف معیار).

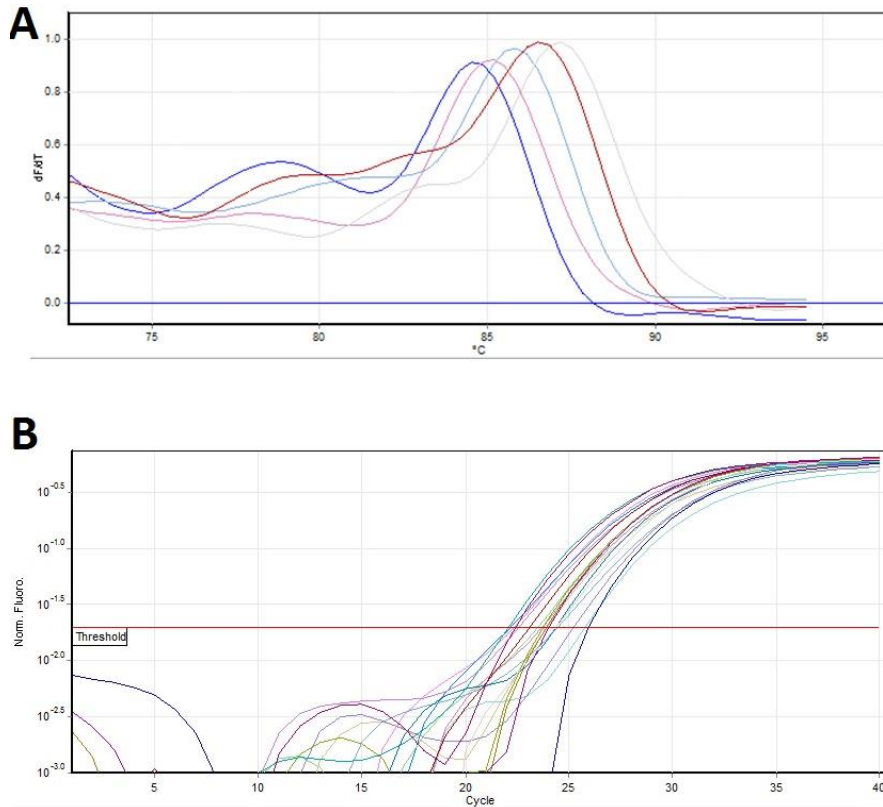
تغییرات وزنی	گروه کنترل	گروه اول (۰/۵)	گروه دوم (۱)	گروه سوم (۱/۵)
	میلی گرم بر کیلوگرم)	میلی گرم بر کیلوگرم)	میلی گرم بر کیلوگرم)	میلی گرم بر کیلوگرم)
روز ۱ ابتدای ۶ هفتگی (گرم)	$16.90^a \pm 1.50$	$17.20^a \pm 1.58$	$17.10^a \pm 1.80$	$16.95^a \pm 1.21$
روز ۱۴ ابتدای ۸ هفتگی (گرم)	$18.40^a \pm 1.37$	$19.51^a \pm 1.07$	$19.90^a \pm 1.91$	$21.01^b \pm 1.23$
روز ۲۸ انتهای ۹ هفتگی (گرم)	$23.50^a \pm 0.96$	$23.90^a \pm 1.83$	$25.10^b \pm 0.49$	$26.50^b \pm 1.31$
میزان افزایش وزن (گرم)	$6.60^a \pm 0.17$	$6.70^a \pm 0.69$	$8.00^b \pm 1.54$	$9.55^b \pm 0.34$
ضریب افزایش به ازای هر روز (گرم)	0.235 ± 0.071	0.239 ± 0.17	0.285 ± 0.28	0.341 ± 1.42

a-b: حروف نامتشابه وجود تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

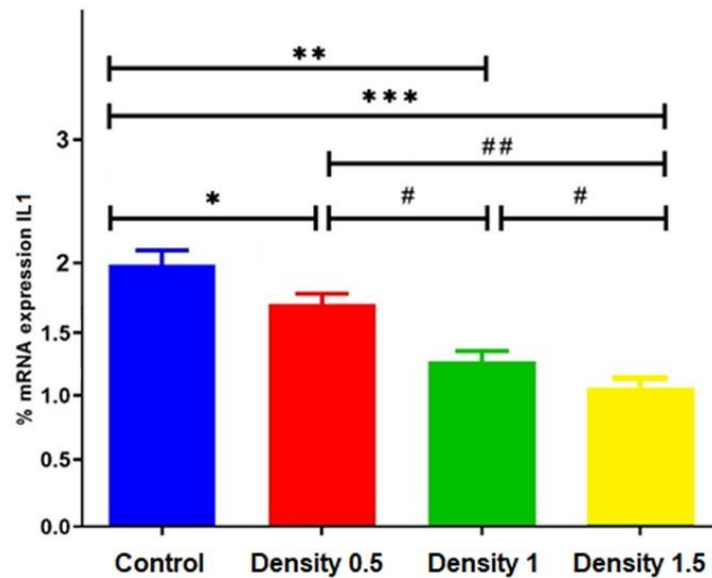
سوم نیز دارای اختلاف معنی دار بود؛ بطوری که میزان بیان ژن IL-1 در گروه اول نسبت به گروه دوم و سوم با افزایش همراه بود. علاوه بر این گروه دوم نسبت به گروه سوم نیز دارای اختلاف معنی دار بود؛ بطوری که میزان بیان ژن IL-1 در گروه دوم نسبت به گروه سوم با افزایش همراه بود. بر اساس نتایج بدست آمده، افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی سرخارگل با کاهش وزن موش‌های تیمار شده همراه بود (شکل ۲).

تغییرات بیان ژنی

نتایج حاصل از آنالیز نمودارهای ذوب و تکثیر ژن‌های IL-1 و ACTB در شکل ۱ ارائه شده است. نمودار ذوب واحد بیانگر عدم وجود محصول غیر اختصاصی می‌باشد. میزان بیان ژن IL-1 در گروه اول نسبت به کنترل بصورت معنی‌داری کاهش نشان داد. همچنین گروه اول نسبت به گروه دوم و



شکل ۱. نمودارهای ذوب (A) و تکثیر (B) حاصل از بررسی بیان ژن IL-1 در سلول‌های سرطانی.



شکل ۲. میزان بیان ژن IL-1 در نمونه‌های بافتی قلب جدا شده از موش‌های گروه کنترل و موش‌های دریافت کننده غلظت‌های مختلف عصاره سرخارگل.

بحث

محققان گزارش نمودند که ترکیب‌های سرخارگل به عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی مؤثر روی سیستم ایمنی، ضد التهاب و از بین برنده درد در برخی از بیماری‌های انسان مانند دندان درد، سرفه، سرماخوردگی و گلودرد قابل استفاده است. پلی‌ساکاریدهای موجود در گیاه سرخارگل می‌تواند باعث تحریک ماکروفاژها برای تولید اینترفرون و اینترلوکین شوند (۱۶). در این مطالعه اثرات عصاره هیدروالکلی گیاه سرخارگل در مقابله با ویروس آنفلوانزا و بیان ژن IL-1 در موش‌های BALB/c بررسی شد. نتایج بررسی تاثیر عصاره سرخارگل در غلظت‌های مختلف بر میزان وزنی و رشد تیمارهای مختلف نشان داد که با افزایش غلظت، میزان وزنی در بین گروه‌ها افزایش پیدا می‌کند، بطوری که تفاوت معنی داری در گروه دریافت کننده عصاره هیدروالکلی سرخارگل با غلظت ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل و گروه اول (دریافت کننده غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مشاهده شد. در همین زمینه Grashorn و Nasir (2010) نشان دادند که استفاده متناوب (سه روز در هفته) عصاره سرخارگل، اثر مثبتی بر افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی دارد (۱۷). همچنین در مطالعه دیگر Mass و همکاران (2005) با تغذیه سطوح ۶ تا ۴/۸ درصد، تفاوتی را در فراسنجه‌های عملکردی جوجه‌های گوشتی و مرغان تخم‌گذار مشاهده نکردند. آنان با مقایسه سطح ۴/۲ درصدی سرخارگل با آنتی‌بیوتیک فلاومايسين، کاهش عملکرد (مصرف خوراک و افزایش وزن بدن) را در تیمار سرخارگل مشاهده کردند (۱۸)، که این پژوهش‌ها تاییدی بر یافته‌های پژوهش حاضر می‌باشد.

درمان عفونت‌های ویروسی به وسیله داروهای موجود، به دلیل مقاومت‌های دارویی که در اثر جهش‌زایی ویروس‌ها مشاهده شده، همراه با شکست بوده و به همین دلیل بشر نیازمند یافتن ترکیبات ضدویروسی جدیدی است. داروهای ضدویروسی باید بتوانند در غلظت‌های کم اثر خود را

بگذارند. این اثرات می‌تواند مستقیماً بر روی فاکتورهای التهابی نیز تاثیر گذار باشد که با ورود ویروس به داخل بدن و ایجاد التهابات مختلف و بیان سایتوکاین‌های التهابی، مانع فعالیت این دسته از عوامل ایجاد التهاب شود (۱۹). همچنین عصاره سرخارگل دارای خواص آنتی‌ویروس آنفلوانزا و همچنین دارای قدرت مهارکنندگی ویروس SARS-CoV2 است (۲۰). طبق مطالعات انجام شده عصاره سرخارگل به دلیل وجود ترکیبات خود توانسته تأثیر مثبتی بر افزایش عملکرد سیستم ایمنی بگذارد (۲۰).

اخیراً اثبات شده است که این گیاه با مهار فاکتورهای التهابی و افزایش قدرت سیستم ایمنی بدن می‌تواند بخوبی در برابر بیماری‌های ویروسی مقابله نماید. در زمان پاسخ ایمنی به عوامل میکروبی، بخصوص ویروس‌ها، کاهش تعداد لنفوسیت‌ها در اثر افزایش سطح سایتوکاین‌ها طی التهاب رخ می‌دهد (۲۱). نتایج بررسی بیان ژن IL-1 در گروه‌های مختلف از تیمار با عصاره هیدروالکلی سرخارگل نشان داد که با افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی سرخارگل، میزان بیان این فاکتور التهابی در گروه‌های مورد چالش قرار گرفته با واکسن آنفلوانزا، بصورت معنی داری کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه IL-1 مسئول ایجاد التهاب و همچنین پیشرفت تب و سپتیمی در بیماری‌های مختلف عفونی است، کاهش میزان بیان آن توسط عصاره‌های طبیعی گیاهی می‌تواند نشانگر اثر مثبت آن در مقایسه با داروهای شیمیایی باشد. این سایتوکین‌ها به وسیله ماکروفاژها، منوسیت‌ها و سلول‌های اپیتلیال تولید و دارای ویژگی‌های التهابی، متابولیکی، هماتوپوییتیکی و ایمنولوژیکی است و در پاسخ به عفونت‌ها، مهاجم میکروبی و التهاب جهت تعدیل ایمنی بدن ترشح می‌شوند و موجب مهاجرت سلول‌های التهابی به سمت بافت هدف می‌گردند. بنابراین به نظر می‌رسد عصاره هیدروالکلی سرخارگل با مهار عملکرد ماکروفاژها، منوسیت‌ها و سلول‌های اپیتلیال باعث سرکوب تولید IL-1 شده و مانع از ایجاد التهاب و کاهش پاسخ ایمنی بدن می‌شود. در همین راستا Zhong و همکاران (2009) نشان دادند که ترکیب سینارین موجود در عصاره گیاه سرخارگل با بلوکه کردن مولکول

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از عصاره گیاه سرخارگل ممکن است در برابر افزایش فعالیت فاکتورهای التهابی بویژه IL-1 در مواجهه با عوامل بیماری زای ویروسی مانند آنفلوانزا تاثیرگذار باشد. البته انتخاب سویه دیگری از ویروس‌ها (غیر از آنفلوانزا) در برابر عصاره گیاه سرخارگل می‌تواند مورد بررسی بیشتری قرار گیرد تا بتوان با اطمینان خاطر از این عصاره به عنوان کاندیدی مناسب و مکمل در جهت کاهش التهابات ناشی از ورود ویروس به میزبان، استفاده کرد.

CD28 در سطح سلول‌های T، موجب مهار عملکرد سلول T می‌شود (۲۲). همچنین Sultan و همکاران (2014) در مطالعه‌ای بیان داشتند که ترکیبات آلکیل آمیدی موجود در سرخارگل دارای اثرات تعدیل کننده ایمنی بوده به طوری که قادر به مهار سلول‌های T در تولید IL-2 می‌باشد (۲۳). مطالعات ذکر شده نشاندهنده تأثیر به سزای عصاره گیاه سرخارگل بر ایمنی‌زایی و مهار التهابات ناشی از ورود عوامل بیماری‌زا از جمله ویروس‌ها هستند که همسو با پژوهش حاضر می‌باشد.

1. Taheri E, Ghorbani S, Safi M, Sani NS, Amoodizaj FF, Heidari M, Chavoshi R, Hajazimian S, Isazadeh A, Heidari M. Inhibition of colorectal cancer cell line CaCo-2 by essential oil of eucalyptus camaldulensis through induction of apoptosis. *Acta Medica Iranica*. 2020;58(6):260-265.
2. Fayazi H, Abdali MA, Koochekzadeh A, Papzan A, Arzanesh MH. Effect of organic and biological fertilizers on nitrogen, phosphorous and potassium contents, photosynthetic pigments and active ingredient in coneflower (*Echinacea Purpurea* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*. 2018;16(2):283-298.
3. Signer J, Jonsdottir HR, Albrich WC, Strasser M, Züst R, Ryter S, Ackermann-Gäumann R, Lenz N, Siegrist D, Suter A, Schoop R. In vitro virucidal activity of Echinaforce®, an *Echinacea purpurea* preparation, against coronaviruses, including common cold coronavirus 229E and SARS-CoV-2. *Virology Journal*. 2020;17(1):125-137.
4. Waidyanatha S, Pierfelice J, Cristy T, Mutlu E, Burbach B, Rider CV, Ryan K. A strategy for test article selection and phytochemical characterization of *Echinacea purpurea* extract for safety testing. *Food and Chemical Toxicology*. 2020; 137:111-125.
5. Hashem MA, Neamat-Allah AN, Hammza HE, Abou-Elnaga HM. Impact of dietary supplementation with *Echinacea purpurea* on growth performance, immunological, biochemical, and pathological findings in broiler chickens infected by pathogenic *E. coli*. *Tropical animal health and production*. 2020;52(4): 599-607.
6. Karg CA, Wang P, Vollmar AM, Moser S. Re-opening the stage for *Echinacea* research-Characterization of phylloxanthobilins as a novel anti-oxidative compound class in *Echinacea purpurea*. *Phytomedicine*. 2019;60: 52- 69.
7. Maggini V, De Leo M, Mengoni A, Gallo ER, Miceli E, Reidel RV, Biffi S, Pistelli L, Fani R, Firenzuoli F, Bogani P. Plant-endophytes interaction influences the secondary metabolism in *Echinacea purpurea* (L.) Moench: an in vitro model. *Scientific reports*. 2017;7(1):1-8.
8. Mahdavi S, Kheyrollahi M, Sheikhoi H, Isazadeh A. Antibacterial and antioxidant activities of essential oil on food borne bacteria. *Open Microbiology Journal*. 2019;13(1):81-85.
9. Mahdavi S, Hajazimian S, Isazadeh A, Babashpour M, Shishehgar R. Study of the antioxidant and antimicrobial effects of the ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh against infectious bacteria isolated from clinical and animal sources. *Journal of Comparative Pathobiology*. 2017;13(4): 63-71.
10. Dobrange E, Peshev D, Loedolff B, Van den Ende W. Fructans as immunomodulatory and antiviral agents: The case of *Echinacea*. *Biomolecules*. 2019;9(10):615-624.
11. Humphreys B, Busath DD. Anti-influenza nutraceuticals: Antiviral and anti-inflammatory effects. *Advances in in Complementary and Alternative Medicine*. 2019;4(3):358-373.
12. Ahmadi F, Samadi A, Sepehr E, Rahimi A, Shabala S. Perlite particle size and NO₃⁻/NH₄⁺ ratio affect growth and chemical composition of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) in hydroponics. *Industrial Crops and Products*. 2021 162: 13-28.
13. Oláh A, Szabó-Papp J, Soeberdt M, Knie U, Dähnhardt-Pfeiffer S, Abels C, Bíró T. *Echinacea purpurea*-derived alkylamides exhibit potent anti-inflammatory effects and alleviate clinical symptoms of atopic eczema. *Journal of dermatological science*. 2017;88(1):67-77.
14. Waidyanatha S, Pierfelice J, Cristy T, Mutlu E, Burbach B, Rider CV, Ryan K. A strategy for test article selection and phytochemical characterization of *Echinacea purpurea* extract for safety testing. *Food and Chemical Toxicology*. 2020; 137:111-125.
15. Aiello N, Marengo A, Scartezzini F, Fusani P, Sgorbini B, Rubiolo P, Cagliero C. Evaluation of the farming potential of *Echinacea angustifolia* DC. Accessions grown in Italy by root-marker compound content and morphological trait analyses. *Plants*. 2020;9(7):873-881.
16. Das K. Medicinal plants for snake bite treatment-future focus. *Ethnobotanical leaflets*. 2009;2009(4):11-23.
17. Nasir Z, Grashorn MA. Effects of *Echinacea purpurea* and *Nigella sativa* supplementation on broiler performance, carcass and meat quality. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 2010;19(1):93-103.
18. Maass N, Bauer J, Paulicks BR, Böhmer BM, Roth-Maier DA. Efficiency of *Echinacea purpurea* on performance and immune status in pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2005;89(7-8):244-252.

19. Hudson J, Vimalanathan S. Echinacea—A source of potent antivirals for respiratory virus infections. *Pharmaceuticals*. 2011;4(7):1019-1031.
20. Pleschka S, Stein M, Schoop R, Hudson JB. Anti-viral properties and mode of action of standardized Echinacea purpurea extract against highly pathogenic avian influenza virus (H5N1, H7N7) and swine-origin H1N1 (S-OIV). *Virology journal*. 2009;6(1):1-9.
21. Vimalanathan S, Schoop R, Suter A, Hudson J. Prevention of influenza virus induced bacterial superinfection by standardized Echinacea purpurea, via regulation of surface receptor expression in human bronchial epithelial cells. *Virus research*. 2017; 233:51-59.
22. Zhong XK, Li DC, Jiang JG. Identification and quality control of Chinese medicine based on the fingerprint techniques. *Current Medicinal Chemistry*. 2009;16(23):3064-3075.
23. Sultan MT, Buttxs MS, Qayyum MM, Suleria HA. Immunity: plants as effective mediators. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2014;54(10):1298-1308.

Evaluation of the effects of hydroalcoholic extract of *Echinacea purpurea* against influenza virus and expression of interleukin-1 (IL-1 β) gene in BALB/c mice

Sepideh Taghiloo¹, Maryam Abbasi^{1*}, Behzad Hemmati²

¹ Department of Biology, Faculty of Basic Science, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

² Biotechnology research center, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran.

Abstract

Sarhargol is a medicinal plant from the chicory plant family, and all its parts, especially the roots, have antiviral properties. Considering the importance of Sarhargol plant in viral treatment, the aim of the study is to investigate the effects of hydroalcoholic extract of Sarhargol plant against influenza virus and interleukin 1 (IL-1) gene expression in BALB/c mice. Extraction from Sarkhargol plant was done by Soxhlet machine. In order to separate the solvent from the desired extract, the obtained solution was purified by a rotary device. 20 female BALB/c mice aged 6-7 weeks were examined in 4 groups of 5. After a month of treating the groups with different concentrations of extracts, tissue samples were isolated for gene expression studies. IL-1 gene expression in different groups was measured by real-time PCR method. The amount of weight gain in the groups fed with hydroalcoholic extract of Sarkhargol was significantly higher than other groups. The results of Real-time PCR analysis also showed that with increasing the concentration of the extract, the level of IL-1 gene expression decreases significantly. The results of this research showed that the use of sorghum plant extract can be effective against increasing the activity of inflammatory factors, especially interleukins, in the face of viral pathogens such as influenza. However, many studies are necessary to obtain accurate results.

Keywords: *Echinacea purpurea*, influenza, Interleukin-1, gene expression, hydroalcoholic extract.

* mar.abbasi@iauctb.ac.ir